



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
CURSO DE ENGENHARIA DE PESCA**

LUNA TATIANA GÓIS NERIS FALCÃO

**EFEITO DA *Chlorella* sp. NA DIETA DE LARVAS DE
PAULISTINHA (*Danio rerio*)**

CRUZ DAS ALMAS

2018

LUNA TATIANA GÓIS NERIS FALCÃO

**EFEITO DA *Chlorella* sp. NA DIETA DE LARVAS DE
PAULISTINHA (*Danio rerio*)**

**Trabalho de Conclusão de Curso
submetido à Coordenação do Curso de
Graduação em Engenharia de Pesca, da
Universidade Federal do Recôncavo da
Bahia como requisito parcial para
obtenção do Grau de Bacharel em
Engenharia de Pesca.**

**Orientadora: Profa. Carla Fernandes
Macedo, D. Sc.**

CRUZ DAS ALMAS

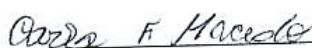
2018

LUNA TATIANA GÓIS NERIS FALCÃO

EFEITO DA *Chlorella* sp. NA DIETA DE LARVAS DE
PAULISTINHA (*Danio rerio*)

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi submetido à Coordenação do Curso de Graduação em Engenharia de Pesca como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Bacharel em Engenharia de Pesca, outorgado pela Universidade Federal do Recôncavo da Bahia.

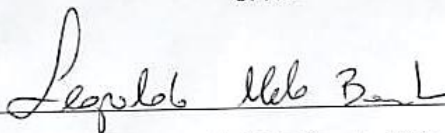
Aprovada em 16 / 08 / 2018



Prof.^a Carla Fernandes Macedo, D.Sc.

Orientadora

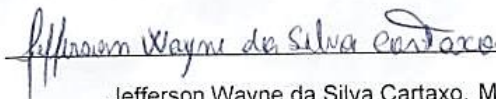
UFRB



Prof. Leopoldo Melo Barreto, D.Sc.

1º Membro

UFRB



Jefferson Wayne da Silva Cartaxo, M.Sc.

2º Membro

UFBA

DEDICATÓRIA

Dedico esta conquista,

Primeiramente à Deus, que se mostrou criador, que foi criativo. Seu fôlego de vida em mim me foi sustento e me deu coragem para questionar realidades e propor sempre um novo mundo de possibilidades.

Aos meus avós paternos e maternos, pela existência de meus pais, pois sem eles este trabalho e muitos dos meus sonhos não se realizariam.

Aos meus amigos!

AGRADECIMENTOS

À Deus, por me conceder saúde e persistência a todo momento para superar meus desafios. Obrigada, Senhor, por ter sido tão bom o tempo todo!

À minha orientadora, Prof.^a Dra. Carla Macedo, pela sua orientação, paciência, confiança, ensinamentos e oportunidade de desenvolvimento acadêmico e pessoal. Obrigada pela ajuda e incentivo na minha formação e por ter me acolhido tão bem em seu laboratório.

Aos colegas do Laboratório de Cultivo Microalgas e Plâncton, por toda ajuda, companheirismo, ensinamentos e apoio fundamental para realização deste trabalho.

À toda minha família, em especial aos meus pais, Valdizélia e Idemar, que com certeza estão muito felizes com mais esse passo que dou em minha vida. Obrigada por toda dedicação e amor a mim direcionados. A minha luta, sempre foi a de vocês. A minha vitória, será eternamente nossa!

À minha avó materna Josélia, por ter contribuído para a minha formação pessoal, pelo carinho e amor.

Aos meus avós paternos, Delza e Aurelino (*in memoriam*), com muito amor e saudade.

Aos meus amigos de curso, do *Vale Indoor* e do *TZNE*, em especial Luciana Oliveira, Ludimila Lima, Tamyres Lopes, Letícia Moura, Amanda Mata, Elvis Matos e Rafael Queiroz, pelos momentos de risadas, descontração, sinceridade e apoio, pois sabemos que a trajetória universitária precisa disso. É da UFRB para a vida.

A todos que contribuíram de alguma forma para realização deste trabalho.

À todas as dificuldades que enfrentei, pois se não fossem elas eu não teria obtido mais esta conquista.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	7
LISTA DE TABELAS	8
RESUMO	9
ABSTRACT	160
1. INTRODUÇÃO	11
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	13
2.1 Piscicultura ornamental.....	13
2.2 Panorama do mercado de peixes ornamentais	13
2.3 Biologia e desenvolvimento do paulistinha (<i>Danio rerio</i>).....	15
2.4 Algas.....	17
2.4.1 Aspectos gerais e ecológicos.....	17
2.4.2 Caracterização e aplicação da <i>Chlorella</i> sp.....	18
3. OBJETIVOS	20
3.1 Objetivo Geral.....	20
3.2 Objetivos específicos.....	20
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	21
4.1 Localização	21
4.2 Reprodução das matrizes	21
4.3 Desenho experimental	22
4.4 Parâmetros biológicos.....	23
4.5 Parâmetros físico-químicos da água	23
4.6 Análise estatística dos dados	24
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	24
5.1 Monitoramento da qualidade da água	25
5.2 Reprodução	25

5.3 Experimento.....	26
6. CONCLUSÃO.....	30
REFERÊNCIAS.....	31

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Exemplar adulto de paulistinha..	15
Figura 2. Fases do desenvolvimento embrionário do paulistinha.....	16
Figura 3. Aquário utilizado na reprodução (A) e gaiola de reprodução (B).....	22
Figura 4. Sobrevivência das larvas de paulistinha nos tratamentos T1 (ração), T2 (50 % de Chlorella) e T3 (25 % de Chlorella)	27

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Parâmetros físico-químicos médios \pm desvio padrão da água de cultivo do paulistinha.	25
Tabela 2. Comprimento médio total final e sobrevivência das larvas de paulistinha com ração e Chlorella suplementada em duas porcentagens na ração.....	26

RESUMO

O paulistinha (*Danio rerio*) é um peixe tropical de água doce, de hábito alimentar onívoro, nativo dos rios do sul da Ásia. Os suplementos podem melhorar a eficiência da ração e aumentar o crescimento e sobrevivência dos peixes cultivados. A *Chlorella* sp., uma alga verde de distribuição cosmopolita, presente principalmente no fitoplâncton de lagos e lagoas, considerada excelente fonte de proteínas, com concentrações favoráveis de carotenóides, polissacarídeos, vitaminas e minerais, tem sido utilizada na aquicultura como suplementação alimentar em dietas para diversas espécies de animais aquáticos. O presente trabalho teve como objetivo verificar o efeito da *Chlorella* como suplemento alimentar no crescimento e sobrevivência de larvas do paulistinha. Para obtenção das larvas, as matrizes foram reproduzidas em gaiolas na proporção de 3 fêmeas : 1 macho. Foram mantidas em fotoperíodo de 14 h claro/10 h escuro, sob aeração constante. O experimento teve duração de 21 dias a partir do terceiro dia pós-eclosão, quando as larvas iniciaram a alimentação exógena. Foram utilizadas 144 larvas distribuídas em um delineamento inteiramente casualizado com três tratamentos e quatro repetições, sendo T1 – ração, T2 – 75% ração + 25% *Chlorella* e T3 - 50% ração + 50% *Chlorella*. A concentração do alimento por aquário/dia foi: T1 – 14 mg de ração; T2 – 10,5 mg de ração e 3,5 mg de *Chlorella* e T3 - 7 de ração e 7 mg de *Chlorella*, distribuídas em três períodos (10, 14 e 17h). As unidades experimentais utilizadas foram aquários de 2L com 1,8 L de água filtrada. Foi realizado o monitoramento da qualidade de água: temperatura ($27 \pm 3^{\circ}\text{C}$), oxigênio dissolvido ($6,65 \pm 1,15$ mg/L) e pH ($6,9 \pm 0,1$). As trocas diárias de 70 % do volume de água do cultivo favoreceram a permanência de uma concentração de oxigênio considerada aceitável para a espécie. O T3 (25 % de *Chlorella*) e o T1 (ração) apresentaram as maiores (75%) e menores (66,66%) porcentagens de sobrevivência, respectivamente. O crescimento das larvas foi mais elevado no T1, com diferença significativa ($p < 0,05$) em relação ao tratamento T2 (50% de *Chlorella*). Desta maneira, a *Chlorella* foi eficiente na suplementação da ração para a sobrevivência dos peixes, visto que a ração comercial utilizada no presente experimento é uma ração protéica de qualidade e pobre em vegetais.

Palavras chave: peixes ornamentais, microalgas, alimentação.

ABSTRACT

The zebrafish (*Danio rerio*) is a freshwater tropical fish, has omnivorous feeding habit, native of the rivers of south Asia. Supplements can improve the efficiency of the ration and increase growth and survival of cultured fish. *Chlorella* sp., green algae of cosmopolitan distribution, present mainly in the phytoplankton of lakes and lagoons, considered excellent source of protein, with favorable concentration of carotenoids, polysaccharides, vitamins and minerals, has been used in aquaculture as dietary supplementation in diets for various species of aquatic animals. The purpose of this work was to verify the effect of *Chlorella* as a food supplement on growth and survival of zebrafish larvae. To obtain the larvae, the matrices were reproduced in cages in the ratio of 3 females : 1 male. They were kept in a photoperiod of 14 h light/10 h dark, under constant aeration. The experiment lasted 21 days from the third day after hatching, when the larvae began to exogenous feeding. 144 larvae were distributed in a completely randomized design with three treatments and four replicates, and T1 - ration, T2 - 75% ration + 25% *Chlorella* and T3 - 50% ration + 50% *Chlorella*. The concentration of the food by aquarius/day was: T1 - 14 mg of ration; T2 - 10.5 mg of ration and 3.5 mg of *Chlorella* and T3 - 7 of ration and 7 mg of *Chlorella*, distributed in three periods (10, 14 and 17 h). The experimental units were used aquariums of 2L with 1.8 L of filtered water. It was carried out the monitoring of water quality: temperature ($27\pm 3^{\circ}\text{C}$), dissolved oxygen (6.65 ± 1.15 mg/L.) and pH (6.9 ± 0.1). The daily changes of 70 % of the volume of water from the cultivation favored the permanence of oxygen concentration deemed acceptable for the species. The T3 (25 % of *Chlorella*) and T1 (Diet) presented the highest (75%) and lower (66.66%) percentages of survival, respectively. The growth of larvae was higher in T1, with a significant difference ($p < 0.05$) in relation to the treatment T2 (50% of *Chlorella*). In this way, the *Chlorella* was efficient in feed supplementation for the survival of fish, whereas the commercial feed used in this experiment is a ration of quality protein and low in vegetables.

Keywords: ornamental fish, microalgae, feeding.

1. INTRODUÇÃO

A produção na aquicultura é considerável em muitos países e crescerá com o aumento da demanda por produtos da pesca e diminuição da oferta de fontes naturais (GATLIN, 2010). Na aquicultura, o cultivo de peixes ornamentais representa uma importante atividade sob os aspectos econômico, social e ambiental (PORTZ e FRANÇA, 2012). Esse setor vem promovendo avanços significativos nas tecnologias empregadas no cultivo de peixes visando o bem-estar animal e a lucratividade (CARDOSO, 2016), sendo significativos no comércio internacional (RIBEIRO *et al.*, 2007). Dentre as espécies mais procuradas, pode-se destacar: beta (*Betta splendens*), carpa comum (*Cyprinus carpio*), peixe japonês (*Carassius auratus*), guppy ou lebiste (*Poecilia reticulata*) e paulistinha (*Danio rerio*).

O paulistinha é um peixe tropical de água doce, de hábito alimentar onívoro, nativo dos rios do sul da Ásia, sendo uma espécie de peixe amplamente popular para estudos de modelagem em biologia do desenvolvimento, toxicologia e técnicas transgênicas (GRUSH *et al.*, 2004). Muitos atributos o elevam ao estatuto de organismo “modelo” para investigação científica, destacando-se o rápido desenvolvimento e tempo de geração curto (KIMMEL *et al.*, 1995).

Não existe no comércio alimentos que atendam às necessidades nutricionais dos peixes ornamentais em todos os estágios de vida das espécies cultiváveis (PORTZ e FRANÇA, 2012). Nesse contexto, as microalgas têm sido utilizadas como alimentos vivos para larvas ou juvenis de crustáceos, para todos os moluscos bivalves, incluindo ostras, vieiras e mexilhões, e também como alimento para o zooplâncton e larvas de peixes (RADHAKRISHNAN *et al.*, 2014).

Muitos estudos já foram realizados com suplementação da ração para melhorar tanto a sobrevivência quanto o crescimento de diversos peixes como a espécie marinha korean rockfish (*Sebastes schlegeli*) (BAI *et al.*, 2001), falso-alabote-japonês (*Paralichthys olivaceus*) (KIM *et al.*, 2002), peixe japonês (XU *et al.*, 2014), paulistinha (BEIRANVAND *et al.*, 2015), tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) (COSTA *et al.*, 2011; BARONE, 2017), bagre-africano (*Clarias gariepinus*) (ENYIDI, 2017), dentre outros.

A inclusão de algas (2,5-10%) em dietas de peixes possui diversos efeitos, como: melhoria no desempenho do crescimento, eficiência na utilização da ração e na microbiota intestinal, melhoria na qualidade da carcaça e na atividade fisiológica (NAKAGAWA, 1997; VALENTE *et al.*, 2006). De acordo com Derner *et al.*, (2006), dentre as microalgas mais empregadas na aquicultura, destacam-se as pertencentes ao gênero *Chlorella*, devido à grande diversidade de nutrientes oriundos da biomassa microalgal.

Tendo em vista o exposto, são constantes as buscas por fontes alternativas de alimento e/ou suplemento alimentar, visto que suplementos podem melhorar a eficiência da ração e possibilitar o aumento no crescimento e sobrevivência de peixes cultivados. Assim, no presente trabalho foi testada a inclusão da *Chlorella* em pó na dieta do paulistinha (*Danio rerio*).

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Piscicultura ornamental

Apesar da maior parte da produção mundial do setor da aquicultura ter como finalidade a produção de alimento, a aquicultura ornamental é também um mercado importante desta indústria (TLUSTY, 2002). Devido ao aumento da demanda de peixes, principalmente pelos aquaristas de países desenvolvidos como EUA, Japão, França, Reino Unido, Itália, Alemanha e Bélgica, originou-se a piscicultura ornamental (RIBEIRO *et al.*, 2010).

Aquariofilia e piscicultura ornamental são atividades diferentes, a primeira se refere ao “hobby” (atividade prazerosa realizada com dedicação e sem fins lucrativos) e a segunda visa produção de peixes em cativeiro, envolvendo etapas de reprodução, larvicultura e engorda, geralmente com fins lucrativos (RIBEIRO *et al.*, 2010). Segundo Nottingham *et al.* (2005), há mais de três mil anos cultivavam peixes em viveiros na China para fins ornamentais, enquanto que na sociedade ocidental esta atividade começou a se desenvolver no século XVII, na Europa, com o primeiro aquário público construído em 1853 (MILLS *et al.*, 1997). Já, em território brasileiro, a piscicultura ornamental é uma atividade relativamente recente, teve início em 1926 com a introdução de algumas espécies asiáticas por intermédio de Shigueiti Takase, um imigrante de origem japonesa que veio ao Brasil interessado em estudar a ictiofauna local (REZENDE, 2010; CARDOSO, 2016).

O cultivo de peixes ornamentais pode ser de baixo custo de implantação e alta rentabilidade (REZENDE, 2010), tendo grande valor agregado e considerado atrativo ao empreendedor (LIMA, 2003). Isso ocorre porque na aquicultura ornamental o peixe é comercializado por unidade, enquanto na de corte é vendido por quilo, sendo que a venda de um exemplar de acará disco, por exemplo, pode representar o valor de dez ou mais quilos de tilápias (FARIA *et al.*, 2016).

2.2 Panorama do mercado de peixes ornamentais

Mundialmente o comércio de peixes ornamentais movimentava cerca de 1,5 bilhões de exemplares por ano (PLOEG, 2012). Cerca de 60% das exportações de peixes ornamentais são provenientes de países em desenvolvimento, onde o Brasil contribui com 5,9% do total das exportações (PLOEG, 2012; ROSSONI *et al.*, 2014).

Os peixes ornamentais cultivados no Brasil, juntamente com a produção extrativista, abastecem um mercado consumidor que abrange mais de 100 milhões de aquários residenciais, considerando toda a América do Norte (LIMA *et al.*, 2001). O Japão importa mais de USD 25 milhões de organismos ornamentais por ano e estima-se que a cada duas residências haja um aquário (RIBEIRO *et al.*, 2010). Os Estados Unidos (EUA) é o maior importador de peixes ornamentais do mundo (FAO, 1996-2005; CHAPMAN, 2000), enquanto Cingapura é o maior exportador (US\$ 50.2 milhões), seguido da Espanha (US\$ 34.6 milhões) e do Japão (US\$ 30.4 milhões) (FARIA *et al.*, 2016).

Os países que tradicionalmente exportam peixes ornamentais de água doce capturados na natureza são Colômbia, Peru e Brasil na América do Sul (LIVENGOOD e CHAPMAN, 2007). De acordo com Faria *et al.* (2016), em 10 anos o Brasil saiu da vigésima primeira para a oitava colocação no mercado exportador mundial, sendo a região amazônica a região exportadora e o estado do Pará responsável por aproximadamente 85% do valor exportado em 2014. Desta maneira, nesse comércio de peixes ornamentais a captura de exemplares em lagoas, rios e oceanos têm grande importância, havendo uma grande necessidade do desenvolvimento de mais pisciculturas ornamentais no país (LIMA *et al.*, 2001).

A captura de peixes ornamentais pode ser considerada atividade potencialmente prejudicial à preservação da biodiversidade, pois a grande riqueza de espécies explorada é, na maioria das vezes, desconhecida do ponto de vista taxonômico e ecológico (BATISTA *et al.*, 2004). Ribeiro e colaboradores (2010) afirmaram que aproximadamente 95% das espécies de peixes ornamentais marinhos ainda são provenientes do extrativismo, enquanto que para os de água doce a situação se inverte, sendo a maioria das espécies produzidas em cativeiro. É estimado que grande parte dos peixes retirados dos oceanos não chega a ser comercializada, sendo a sobrevivência em torno de 20% (GORDON e HECHT, 2002).

Diante do exposto, a piscicultura ornamental pode contribuir para a diminuição de pesca extrativa (RIBEIRO *et al.*, 2010). As espécies mais cultivadas em escala comercial no mundo são os peixes de água doce da família Cyprinidae, mais especificamente as carpas coloridas e o peixe dourado (LIMA *et al.*, 2001).

2.3 Biologia e desenvolvimento do paulistinha (*Danio rerio*)

O paulistinha, também conhecido como *zebrafish*, é um teleósteo tropical de água doce, pertencente à família Cyprinidae, que foi descrito por Francis Hamilton no início do século XIX (SPENCE *et al.*, 2008). É originário do sul da Ásia e amplamente distribuído em partes da Índia, Bangladesh, Mianmar, Nepal e Paquistão (BHAT, 2003). Esta região geográfica apresenta características climáticas extremas, com estações que variam de chuvosas a secas, onde os paulistinhas têm como habitat preferencial massas de água pouco profundas, estagnadas ou lentas, tal como pequenos lagos naturais ou artificiais, diques de irrigação e arrozais, embora possam também ocorrer em rios (LAWRENCE, 2007; SPENCE *et al.*, 2008).

A espécie apresenta um padrão de coloração característico, do qual resulta o nome *zebrafish*, com listras horizontais claras e escuras em toda extensão (MARTÍNEZ, 2012; SPENCE *et al.*, 2008) (Figura 1). Possui um corpo fusiforme, achatado lateralmente, com a boca direcionada para cima (SPENCE *et al.*, 2008) e, quando adulto, raramente excede 50 mm de comprimento total (SPENCE *et al.*, 2008, REED e JENNINGS, 2010).



Figura 1. Exemplar adulto de paulistinha. Fonte: *Fish Base*.

O paulistinha vive em cardume da fase larval ao longo de toda a vida (ENGESZER *et al.*, 2007; LAWRENCE, 2007; SPENCE *et al.*, 2008). O dimorfismo sexual em indivíduos juvenis não é muito evidente, mas quando adultos, os machos são mais afilados, geralmente dourados na região ventral e tendem a apresentar barbatanas anais mais amareladas e maiores, enquanto as fêmeas são geralmente maiores que os machos e apresentam o ventre mais arredondado, mais evidente na estação reprodutiva (SPENCE *et al.*, 2008; MARTÍNEZ, 2012; SILVA, 2015).

O peixe paulistinha é ovíparo, sendo a fertilização e o desenvolvimento externos (SILVA, 2015). A maturidade sexual é alcançada entre 10-12 semanas de vida (DETRICH *et al.*, 1999) e se reproduz em pequenos grupos, com fêmeas dispersando ovos sobre o substrato sem cuidado parental (LAWRENCE, 2007). Os machos são territoriais em locais potenciais de oviposição (SPENCE e SMITH, 2005), sendo que as fêmeas podem desovar centenas de ovos a cada 2-3 dias (LAWRENCE, 2007). Os ovos são demersais e, dependendo das condições (temperatura, química da água, etc.), a eclosão ocorre entre 48-72 h (KIMMEL *et al.*, 1995). O fato dos embriões serem translúcidos ou com transparência óptica durante a embriogênese permite melhor visualização dos estágios do desenvolvimento embrionário (Figura 2) (SILVA, 2015).

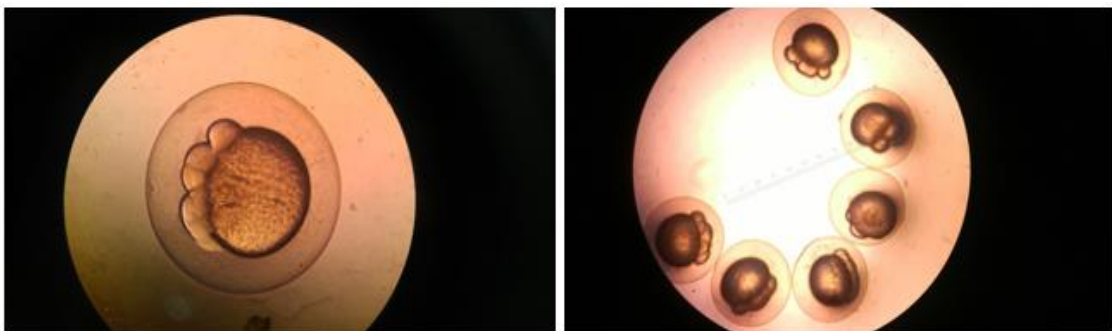


Figura 2. Fases do desenvolvimento embrionário do paulistinha Fonte: Autor.

As larvas recém-eclodidas, geralmente com ± 3 mm de comprimento, permanecem no fundo do aquário, aderem às paredes e sobem gradativamente até a superfície onde ingerem o ar necessário para insuflarem a bexiga-natatória (GOOLISH e OKUTAKE, 1999). A alimentação exógena começa entre o quarto e o sétimo dia pós-fertilização, após esgotamento das reservas vitelinas, podendo as

larvas na transição para a fase juvenil triplicarem o tamanho em três semanas e adquirirem escamação completa, coloração e sistema de barbatanas semelhante ao adulto (PARICHY *et al.*, 2009).

Os paulistinhas são considerados onívoros, uma vez que podem consumir uma grande variedade de crustáceos bentônicos e planctônicos, além de vermes e larvas de insetos (DUTTA, 1993; SPENCE *et al.*, 2008). De acordo com Lawrence (2007), as informações sobre as preferências alimentares dos animais no ambiente natural são relevantes para a criação, pois podem auxiliar no planejamento mais adequado de dietas e protocolos que representem melhor o comportamento alimentar da espécie se comparados aos usados normalmente em cultivos.

O paulistinha se tornou uma espécie de peixe amplamente popular para estudos de modelagem em biologia, toxicologia e técnicas transgênicas (GRUSH *et al.*, 2004). Tal fato decorre de um conjunto de características que o tornam apropriado para uso experimental, como alta fecundidade, pequeno tamanho, tempo rápido entre gerações, eclosão das larvas entre 2 e 3 dias e transição da fase larval para juvenil cerca de 30 dias (LAWRENCE, 2007).

A espécie em questão também é utilizada como modelo biológico pela homologia genética com mamíferos, inclusive humanos (JONES, 2007). A maioria das instalações de criação do paulistinha utiliza uma técnica de reprodução em que uma pequena gaiola de plástico é colocada dentro de um recipiente ligeiramente maior preenchido com água (LAWRENCE, 2007). Desta maneira, visto que os métodos laboratoriais para criação e manejo já estão bem estabelecidos, podem ser produzidos diariamente um grande número de ovos fertilizados em condições laboratoriais simples (WESTERFIELD, 2000).

2.4 Algas

2.4.1 Aspectos gerais e ecológicos

As algas fotossintetizantes e as cianobactérias, que em conjunto constituem o fitoplâncton, formam a base da cadeia alimentar para heterotróficos de oceanos e corpos de água doce (RAVEN, 2014). Assim, algas são de fundamental importância

na manutenção da vida nos ecossistemas aquáticos, sendo responsáveis por 98 % do oxigênio da terra (BICUDO, 2004).

A grande maioria das algas é autotrófica, ou seja, sintetiza metabólitos essenciais a partir de substâncias químicas relativamente mais simples e energia luminosa (BICUDO e BICUDO, 1970). Fisiologicamente podem ser procarióticas ou eucarióticas, variando em diversas características, como tamanho e morfologia (HOEK *et al.* 1995; MCHUGH, 2003). Geralmente, o fitoplâncton de água doce é representado pelas algas pertencentes aos Filos Euglenophyta, Chrysophyta, Bacillariophyta e Chlorophyta (ESTEVES, 2011).

As algas podem ser utilizadas para diversos fins. O desenvolvimento de processos envolvendo microalgas é foco de diversas pesquisas devido à capacidade de sintetizar uma diversidade de produtos (vitaminas, proteínas, pigmentos, lipídeos) (CARVALHO *et al.*, 2015). Estima-se que cerca de 30% da produção de algas do mundo é utilizada na alimentação de animais aquáticos em diferentes fases de desenvolvimento (BECKER, 2017): *Chlorella* sp. (GRAEFF, 2003; COSTA *et al.*, 2011; ZATKOVA *et al.*, 2011; CORNÉLIO, 2012), *Spirulina* sp. (TAKEUCHI *et al.*, 2002; DERNER *et al.*, 2006; HANEL *et al.*, 2007; MOREIRA *et al.*, 2010), *Ankistrodesmus gracilis* e *Haematococcus pluvialis* (MORAIS, 2013), dentre outras.

2.4.2 Caracterização e aplicação da *Chlorella* sp.

As clorofíceas ou algas verdes envolvem um grupo amplo de organismos com uma enorme variabilidade morfológica de microscópicas a macroscópicas, compreendendo quatro classes: Micromonadophyceae, Charophyceae, Ulvophyceae e Chlorophyceae (DANTAS, 2013). São algas cosmopolitas, sendo principalmente dulciaquícolas, mas um grande número de espécies também se desenvolve em habitats marinho, terrestre e subaéreo, ou ainda em endossimbiose, geralmente com líquens (SHUBERT, 2003; QIAO *et al.*, 2009; DANTAS, 2013; BARONE, 2017).

A exploração comercial de algas verdes microscópicas compreende relativamente poucos gêneros da classe Chlorophyceae entre os quais: *Chlorella*, *Dunaliella*, *Haematococcus* e *Botryococcus* (TOMASELLI, 2008). Segundo Derner *et*

al. (2006), dentre as microalgas mais empregadas na aquicultura destaca-se a *Chlorella*.

A *Chlorella* sp. possui distribuição cosmopolita, presente principalmente no fitoplâncton de lagos e lagoas, inclui espécies com tolerância a altas temperaturas, sendo que algumas podem crescer entre 15°C e 40°C (DANTAS, 2013). A reprodução é principalmente assexuada por esporos (GRAHAM e WILCOX, 2000).

O potencial da *Chlorella* sp. foi reconhecido no final da década de 1940, quando foram cultivadas em meio mineral definido e realizados diversos experimentos, especificando-se as necessidades nutricionais e ambientais para cada espécie (HSIUAN *et al.*, 2000). É considerada excelente fonte de proteínas, com concentrações favoráveis de carotenóides, polissacarídeos, vitaminas e minerais (como fósforo, ferro, manganês, cobre, zinco, magnésio e cálcio) (BECKER e VENKATARAMAN, 1981; BAI *et al.*, 2001; KIM *et al.*, 2002; MASOJÍDEK *et al.*, 2010). Também possui alta produtividade, o que a caracteriza como um dos organismos mais comumente utilizados na produção de biomassa de algas (GÖRS *et al.*, 2010), podendo ser comercializadas como alimento natural ou suplemento alimentar, sendo encontradas em pó, tabletes, cápsulas ou extratos (DERNER *et al.*, 2006).

A *Chlorella* sp. tem sido utilizada na aquicultura como suplemento alimentar em dietas para diversas espécies de animais aquáticos (BAI *et al.*, 2001; COSTA *et al.*, 2011; FRANÇA, 2015; BARONE, 2017; RAMOS *et al.*, 2017; ENYIDI, 2017), assim como têm sido realizados trabalhos visando testar o potencial de substâncias antioxidantes no desenvolvimento de camarões (RADHAKRISHNAN *et al.*, 2014). Outros trabalhos foram realizados com biomassa de microalgas visando melhor crescimento de peixes ornamentais (SUN *et al.*, 2012).

Soares *et al.* (2000) afirmaram que o alimento natural é de fundamental importância no desenvolvimento dos peixes, principalmente nos estágios iniciais. Uma alimentação inadequada pode levar a altas taxas de mortalidade e redução nos parâmetros de desenvolvimento (NASCIMENTO, 1989; HUNG, 1989). Produtores de peixes ornamentais reconhecem a importância da suplementação de alimentos formulados com biomassa de microalgas para melhor crescimento, eficiência alimentar e respostas fisiológicas ao estresse e a doenças (BAGRE *et al.*, 2012).

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Avaliar o efeito da *Chlorella* como suplemento alimentar para larvas de paulistinha.

3.2 Objetivos específicos

- Analisar o efeito da ração suplementada com *Chlorella* na alimentação das larvas;
- Verificar sobrevivência e crescimento das larvas;
- Monitorar a qualidade da água no decorrer do estudo.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Localização

O experimento foi conduzido no Laboratório de Cultivo Microalgas e Plâncton do Núcleo de Estudos em Pesca e Aquicultura (NEPA) do Curso de Engenharia de Pesca, localizado no Campus de Cruz das Almas da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), no período de maio a julho de 2018.

4.2 Reprodução das matrizes

Para a reprodução foram utilizadas matrizes adquiridas comercialmente e a seleção dos reprodutores foi baseada nas características morfológicas dos peixes. A reprodução e manutenção dos peixes seguiram metodologia adaptada de Lawrence (2007) e protocolo de Westerfield (2000).

Foram preparados três aquários de 15 litros com utilização de 2/3 da capacidade com água desclorada, aeração constante, um sistema de filtragem de esponja mecânica e controle da temperatura com termostato. Os reprodutores foram colocados nas gaiolas no final da tarde pois a reprodução dessa espécie é influenciada pelo fotoperíodo (LAWRENCE, 2007) e a desova ocorre geralmente no início do ciclo de luz. Em cada aquário foram introduzidos quatro exemplares adultos de paulistinha, sendo três fêmeas e um macho. Em cada aquário foi colocada uma gaiola (15x17x25cm) interna suspensa de malha plástica rígida (polietileno) de 30 mm de espessura, com abertura de malha de 3 a 4 mm para proteção dos ovos depositados no fundo e impedimento do canibalismo (Figura 3).



Figura 3. Aquário utilizado na reprodução (A) e gaiola de reprodução (B). Fonte: Autor.

A coleta dos ovos foi realizada por sifonagem, sendo os mesmos retirados juntamente com possíveis restos de alimentos e excretas. Posteriormente os ovos foram transferidos para recipientes menores contendo água filtrada e desclorada e controlados os parâmetros físicos e químicos (temperatura e pH com uma sonda multiparâmetro Hanna HI 991300, oxigênio dissolvido (mg.L^{-1}) com oxímetro Hanna HI 9146, amônia, nitrito e nitrato com kits colorimétricos comerciais Alfakit). Em seguida foi realizada a lavagem com água filtrada e desclorada, separados os ovos viáveis com pipetas plásticas descartáveis e placas de Petri e transferidos para outro aquário de 15 L, com capacidade útil de 7,5 L de água e aeração constante.

Após a eclosão, as larvas iniciaram o consumo das reservas vitelínicas e assim permaneceram até o início do experimento, quando foram separadas e transferidas para aquários menores.

4.3 Desenho experimental

O experimento teve duração de 21 dias a partir do terceiro dia pós-eclosão. Foram utilizadas 144 larvas distribuídas em um delineamento inteiramente casualizado com três tratamentos e quatro repetições, em aquários com capacidade para 2 L, totalizando 12 unidades experimentais.

Foram testados dois alimentos em três tratamentos, ração comercial Tetra Color Bits (47,5% de proteína, 11% de minerais, 6,5% de fósforo, 3% de cálcio e 1,5% de fibras) por ser uma ração de alta qualidade e comumente utilizada na manutenção de peixes ornamentais e *Chlorella* comercial em pó.

Os tratamentos foram: T1 – ração, T2 – 50% ração + 50% *Chlorella* e T3 – 75% ração + 25% *Chlorella*. A concentração do alimento por aquário/dia foi: T1 – 14 mg de ração; T2 – 7 de ração e 7 mg de *Chlorella* e T3 – 10,5 mg de ração e 3,5 mg de *Chlorella*. A concentração diária do alimento foi distribuída em três períodos (10, 14 e 17h). Para alimentação das larvas, os componentes dos tratamentos, ração e *Chlorella* em pó, foram previamente preparados com maceração em cadinho e, em seguida, separação com peneira de malha 150 micras, visando redução do tamanho das partículas e adequação à abertura da boca das larvas (LAWRENCE, 2007). Diariamente foi realizada troca parcial da água dos aquários, sendo retiradas larvas mortas, bem como sifonados os restos de alimentos e fezes.

4.4 Parâmetros biológicos

As variáveis analisadas foram o comprimento e a taxa de sobrevivência. O crescimento foi obtido através da biometria ao final do experimento, enquanto que a sobrevivência foi registrada diariamente. Para as medições as larvas foram colocadas individualmente com uma pipeta de Pasteur em placa de Petri milimetrada para visualização em uma lupa Olympus SZ61.

4.5 Parâmetros físico-químicos da água

Durante o período experimental foram analisados os parâmetros físico-químicos da água duas vezes por semana em todas as unidades experimentais: temperatura (°C), pH; oxigênio dissolvido (mg.L⁻¹); e as formas de nitrogênio: amônia, nitrito e nitrato.

4.6 Análise estatística dos dados

As análises estatísticas foram realizadas no BioEstat 5.3 – 2012. As médias, quando significativas, foram submetidas à análise de variância ANOVA e comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Monitoramento da qualidade da água

Os parâmetros físico-químicos da água de cultivo assim como as formas nitrogenadas não apresentaram variações significativas durante a realização do experimento (Tabela 1), ficaram dentro dos limites estabelecidos para o cultivo do paulistinha (LAWRENCE e HARPER, 2010).

Tabela 1. Parâmetros físico-químicos médios \pm desvio padrão. da água de cultivo do paulistinha.

Tratamentos	Parâmetros físico-químicos		
	Temperatura (°C)	Oxigênio (mg.L ⁻¹)	pH
T1 (ração)	27,4 \pm 3°C	6,58 \pm 1,13 mg.L ⁻¹	6,9 \pm 0,1
T2 (50% <i>Chlorella</i>)	27,6 \pm 2°C	6,60 \pm 1,15 mg.L ⁻¹	7,0 \pm 0,1
T3 (25% <i>Chlorella</i>)	27,7 \pm 3°C	6,61 \pm 1,15 mg.L ⁻¹	6,9 \pm 0,1

Os compostos nitrogenados, amônia, nitrito e nitrato, foram mantidos dentro da faixa recomendada para a espécie em estudo (0,02, 1 e 200 ppm, respectivamente), sendo amônia e nitrito os compostos nitrogenados mais tóxicos para os peixes e, em altas concentrações no ambiente podem ocasionar inflamação nas brânquias, maior suscetibilidade a doenças e retardo no crescimento, acarretando até morte (KUBITZA, 2013). As trocas diárias de 70 % do volume de água do cultivo favoreceram a permanência de uma concentração de oxigênio considerada aceitável, o que provavelmente possibilitou a conversão do nitrito em nitrato pelas bactérias *Nitrobacter* (FERREIRA, 2009).

5.2 Reprodução

A reprodução ocorreu dentro do esperado para as condições disponíveis no laboratório. O uso de gaiolas de reprodução possibilitou uma rápida desova dos reprodutores e fertilização dos ovos. Os ovos viáveis foram transferidos para aquários com uma menor coluna de água (7,5L de água filtrada) visando menor gasto

energético das larvas, conforme recomendado por Lawrence (2007). Entre o terceiro e quarto dia pós-fertilização as larvas eclodiram, teve início a alimentação das reservas do saco vitelino.

5.3 Experimento

As larvas do paulistinha tiveram um bom desenvolvimento com ração (maior crescimento) e a suplementação com uma pequena quantidade de *Chlorella* (maior sobrevivência) (Tabela 2). O comprimento variou de 4,9 a 5,2 mm nos tratamentos T2 (50% *Chlorella*) e T1 (ração) e a sobrevivência de 66,66 a 75 % nos tratamentos T1 (ração) e T3 (25% *Chlorella*).

Tabela 2. Comprimento médio total final e sobrevivência das larvas de paulistinha com ração e *Chlorella* suplementada em duas porcentagens na ração.

Parâmetros zootécnicos	Tratamentos		
	T1 (ração)	T2 (50% <i>Chlorella</i>)	T3 (25% <i>Chlorella</i>)
Comprimento médio total final (mm)	5,20 ^a	4,90 ^b	5,00 ^a
Sobrevivência (%)	66,66 ^a	72,91 ^b	75,00 ^b

Letras diferentes na mesma linha representam diferença estatística significativa ($p < 0,05$). Letras iguais na mesma linha indicam ausência de diferenças significativas ($p \geq 0,05$).

O T3 e o T1 apresentaram as maiores (75%) e menores (66,66%) porcentagens de sobrevivência, respectivamente. Os resultados mostraram (Figura 4) que houve diferença ($p < 0,05$) entre tratamentos para a sobrevivência, onde as larvas que receberam dieta contendo 25% *Chlorella* (T3) apresentaram desenvolvimento significativamente superior, enquanto que a ração (T1) não foi um alimento tão eficiente para o desenvolvimento inicial das larvas de paulistinha, visto que nesse tratamento foram obtidas as menores taxas de sobrevivência.

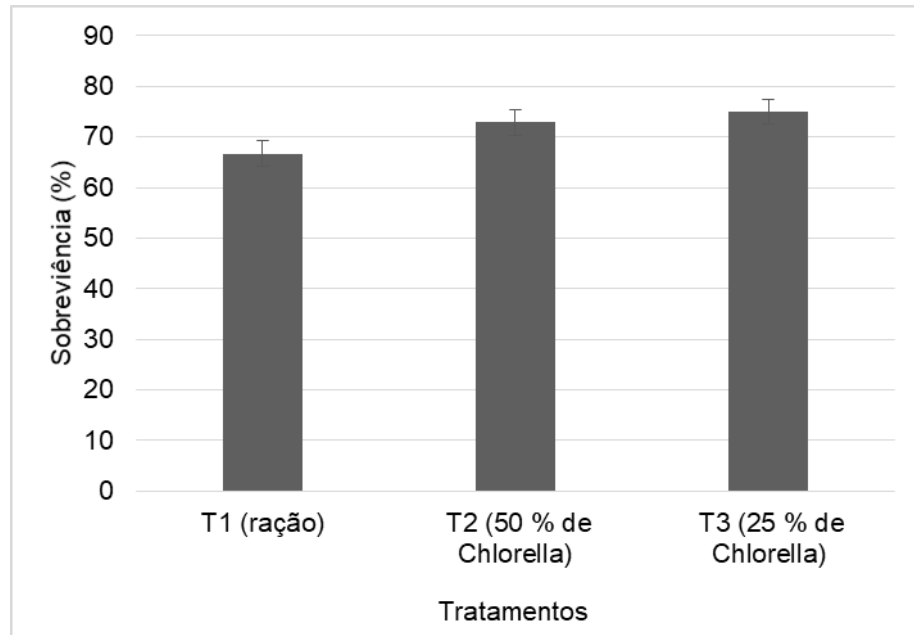


Figura 4. Sobrevivência das larvas de paulistinha nos tratamentos T1 (ração), T2 (50 % de *Chlorella*) e T3 (25 % de *Chlorella*). Fonte: Autor.

A maior sobrevivência do tratamento T3 (25 % de *Chlorella*) pode ser atribuída ao alto teor de aminoácidos essenciais, como lisina e metionina encontrado na *Chlorella* que podem contribuir para melhorar a alimentação (ENYIDI, 2017). Estudos anteriores mostraram que dietas com algas são facilmente digeríveis no intestino de larvas (CAHU *et al.*, 1998; DAWAH *et al.*, 2002; WANG *et al.*, 2008).

No presente estudo o crescimento das larvas foi mais elevado nos tratamentos com ração, com diferença significativa ($p < 0,05$) entre o T1 e o T2 (50% de *Chlorella*) (Figura 5). Mostrando que a suplementação com 50% *Chlorella* não favoreceu um maior crescimento inicial das larvas de paulistinha. As larvas alimentadas com ração comercial cresceram mais em relação aos demais tratamentos. Isso pode ocorrer porque o efeito da inclusão de algas pode variar de acordo com a qualidade da cepa que originou a cápsula comercial adquirida e, além disso, o alimento pode ter outras funções fisiológicas não quantificadas pelo crescimento (ENYIDI, 2017). Isso foi observado por Rocha para o goraz (2008) e Güroy (2011) para a truta arco-íris.

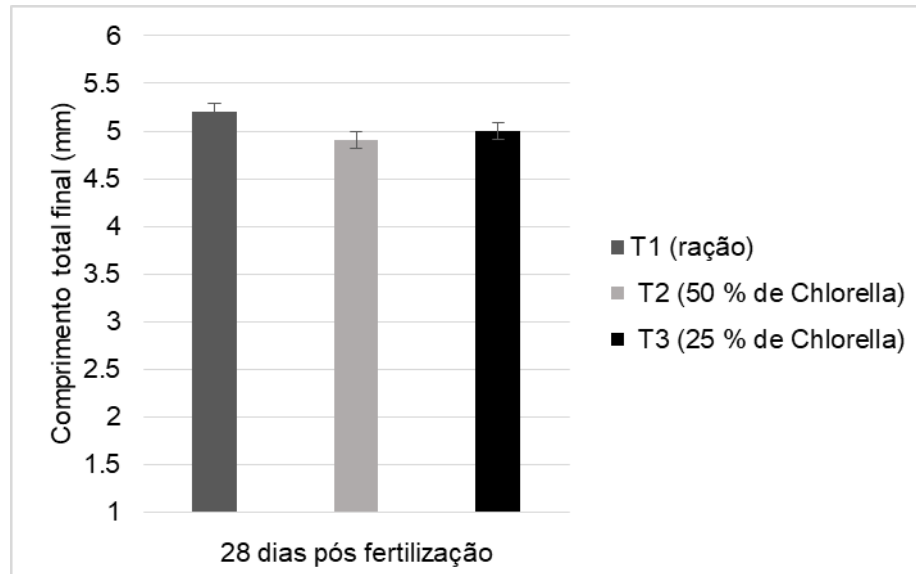


Figura 4. Comprimento total final das larvas de paulistinha nos tratamentos T1 (ração), T2 (50 % de *Chlorella*) e T3 (25 % de *Chlorella*). Fonte: Autor.

De forma contrária, Wang *et al.* (2008) notaram que a inclusão de dafnia e *Chlorella* melhorou o crescimento larval. No entanto, alguns pesquisadores observaram que a inclusão de algas em dietas de peixes carnívoros juvenis como o salmão, não teve outro efeito, exceto na relação de conversão alimentar (NORAMBUENA *et al.*, 2015).

Bai *et al.* (2001) testaram os efeitos da inclusão de *Chlorella* em pó como aditivo na alimentação de juvenis do peixe ornamental korean rockfish e obtiveram melhor resultado com 0,5% de *Chlorella*, em relação a 0, 1,5, 2,0 e 4,0%, sendo encontrado maior ganho de peso e crescimento específico. Já Kim *et al.* (2002) avaliaram a *Chlorella ellipsoidea* na dieta do ornamental *Paralichthys olivaceus* e obtiveram melhores resultados com 2 e 4% para ganho de peso e taxa de crescimento específica. Xu *et al.* (2014) testaram níveis de suplementação de *Chlorella* sp. na dieta do *Carassius auratu* e obtiveram melhores resultados com 1,2; 1,6 e 2% para ganho de peso e taxa de crescimento. *Chlorella vulgaris* também foi incluída em dietas de camarão e, depois de 90 dias de um experimento de alimentação, a taxa de crescimento específico, conversão alimentar e ganho de peso foram significativamente ($p < 0,05$) melhor naqueles alimentados com 50% *C. vulgaris* dieta de inclusão do que o resto. Da mesma forma, Badwy *et al.* (2008) relataram aumento no peso corporal de *O. niloticus* alimentadas com refeições secas da *Chlorella* spp. e *Scenedesmus* spp.

Já Zatkova *et al.* (2011) alimentaram juvenis de catfish albino (*Silurus glanis*) com dietas suplementadas com *Chlorella*, *Haemaetococcus* e *Scenedesmus* e os animais cresceram mais com a dieta controle suplementada com *Haematococcus* e *Scenedesmus* verificando-se aumento de 13% e 38%, respectivamente.

Chlorella vulgaris também tem sido frequentemente testada para aumentar as taxas de pigmentação em várias espécies de peixes, como a truta arco-íris, a dourada, carpas koi e peixes-dourados (GOUVEIA *et al.*, 1998, 2002, 2003). Em outro estudo foi verificado que a inclusão de 20% de *C. vulgaris* na dieta teve efeito favorável na saúde intestinal do *Salmo salar* (GRAMMES *et al.*, 2013).

Outros estudos têm testado a eficiência da *Chlorella* na suplementação da dieta de camarões (RADHAKRISHNAN *et al.*, 2015; PAKRAVAN *et al.*, 2017) e mostrado que a aceitação e o desempenho da dieta com farinha de *Chlorella* pode depender da preferência alimentar, hábitos e distribuição das espécies de peixes (ENYIDI, 2017).

6. CONCLUSÃO

A *Chlorella* foi eficiente na suplementação da ração para a sobrevivência dos peixes, pois a dieta T3 (25 % de *Chlorella*) foi a que apresentou o melhor resultado em relação as demais, tendo em vista que ração comercial utilizada no presente experimento é uma ração protéica de qualidade.

Recomendam-se testes para verificar o crescimento dos animais com ração suplementada em porcentagens inferiores e com outras cepas comerciais ou cultivadas em laboratório. Sugerem-se também estudos sobre a relação custo-benefício da oferta da *Chlorella* desidratada para os peixes, verificando-se vantagens para os pequenos produtores de peixes ornamentais.

REFERÊNCIAS

BADWY, TARTIEL M. et al. Partial replacement of fishmeal with dried microalga (*Chlorella* spp. and *Scenedesmus* spp.) in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) diets. In: **8th International Symposium on Tilapia in Aquaculture**. 2008. p. 801-811.

BAI, S. C. et al. Effects of *Chlorella* powder as a feed additive on growth performance in juvenile Korean rockfish, *Sebastes schlegeli* (Hilgendorf). **Aquaculture Research**, v. 32, p. 92-98, 2001.

BARONE, Rafael Simões Coelho. **Microalgas como ingrediente e suplemento dietético para tilápia *Oreochromis niloticus*: valor biológico, desempenho e composição da carcaça**. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. 2017.

BECKER, E. W. Micro-algae as a source of protein. **Biotechnology advances**, v. 25, n. 2, p. 207-210, 2007.

BECKER, W. E.; VENKATARAMAN, L. V. Production and utilization of the blue-green algae *Spirulina* in India. **Biomass**, v.4, p.105-125, 1984.

BEIRANVAND, M.; GHAENI, M.; VELAYATZADEH, M. Impact of *Spirulina* sp. on growth and food intake in *Danio rerio* HAMILTON, 1822. **Journal: Nova Biologica Reperta**, v.2, n.3, p. 207 – 215. Department of fishery, Islamic Azad University of Ahvaz. Iran, 2015.

BHAT, Anuradha. Diversity and composition of freshwater fishes in river systems of Central Western Ghats, India. **Environmental Biology of Fishes**, v. 68, n. 1, p. 25-38, 2003.

BICUDO, Carlos EM; BICUDO, Rosa MT. Algas de águas continentais brasileiras. In: **Algas de águas continentais brasileiras**. Funbec, 1970.

CARDOSO, Marjana dos Santos. Diferentes meios de cultivo na produção de platy (*Xiphophorus maculatus*). 2016. Trabalho de Conclusão de Curso – Universidade Federal do Pampa Campus Uruguaiana. Uruguaiana. 2016.

CARVALHO, A. B.; RECH, R.; MARCILIO, N. R.; TESSARIO, I. C.; "Recuperação e purificação de biomassa das microalgas *Chlorella* sp. e *Dunaliella tertiolecta* utilizando microfiltração tangencial", p. 1466-1475 . In: **Anais do XX Congresso Brasileiro de**

Engenharia Química - COBEQ 2014 [Blucher Chemical Engineering Proceedings, v.1, n.2]. São Paulo: Blucher, 2015.

CHAPMAN, F. A. Ornamental fish culture, freshwater. **Encyclopedia of aquaculture**, v. 3, p. 602-610, 2000.

CORNÉLIO, JPDS. **Isolamento e produção de *Chlorella* sp. (Chlorophyceae) e *Moina* sp. (Cladocera) para utilização na larvicultura de Matrinxã (*Brycon amazonicus*).** 2012. Tese de Doutorado. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) – Universidade Nilton Lins, Manaus.

COSTA, Fernanda Tamyres Martins da *et al.* "*Chlorella*" sp. como suplemento alimentar durante a larvicultura de tilápia do Nilo. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 12, n. 4, 2011.

DANTAS, Danielli Matias de Macêdo. Atividade biológicas das preparações obtidas das clorofíceas *Chlorella vulgaris* e *Scenedesmus subspicatus* Chodat e suas potenciais aplicações biotecnológicas. 2013.

DERNER, Roberto Bianchini *et al.* Microalgas, produtos e aplicações. Microalgae, products and applications. **Ciência Rural**, v. 36, n. 6, p. 1959-1967, 2006.

DETRICH, W. H., WESTERFIELD. The zebrafish: biology. **Methods in cell biology**, San Diego, CA, v. 59, 1999.

DUTTA, S. P. S. Food and feeding habits of *Danio rerio* (Ham. Buch) inhabiting Gadigarh Stream, Jammu. **Journal of Freshwater Biology**, v. 5, n. 2, p. 165-168, 1993.

ENGESZER, Raymond E. *et al.* Zebrafish in the wild: a review of natural history and new notes from the field. **Zebrafish**, v. 4, n. 1, p. 21-40, 2007.

ENYIDI, Uchechukwu D. *Chlorella vulgaris* as Protein Source in the Diets of African Catfish *Clarias gariepinus*. **Fishes**, v. 2, n. 4, p. 17, 2017.

ESTEVEZ, Francisco de Assis *et al.* **Fundamentos de limnologia.** 2011.

FAO, Food and Agriculture Organization of the United Nations. 1996-2005. **The numbers represent the average unit value of imports for 1994-2003.** FAO Yearbooks 1996 to 2005, Fishery Statistics, Commodities Volumes 83-97. FAO: Rome, Italy.

FARIA, P. M. C.; RIBEIRO, K.; ALMEIDA, C. F.; SANTOS, F. W. M.; SANTOS, R. F. B. Aquicultura Ornamental: um mercado promissor. **Panorama da Aquicultura**, v.26, p. 24 – 37, 2016.

FRANÇA, Marcela Domingues. **Efeito da incorporação de microalgas e copépodes em alimentos para peixe-palhaço, *Amphiprion percula***. 2015. Tese de Doutorado. Escola Superior de Turismo e Tecnologia do Mar – Peniche.

GATLIN, Delbert M. **Principles of fish nutrition**. 2010.

GOOLISH, E. M.; OKUTAKE, K. Lack of gas bladder inflation by the larvae of zebrafish in the absence of an air-water interface. **Journal of fish biology**, v. 55, n. 5, p. 1054-1063, 1999.

GORDON, A. K.; HECHT, T. Histological studies on the development of the digestive system of the clownfish *Amphiprion percula* and the time of weaning. **Journal of Applied Ichthyology**, v. 18, n. 2, p. 113-117, 2002.

GÖRS, Manuela et al. Quality analysis of commercial *Chlorella* products used as dietary supplement in human nutrition. **Journal of applied phycology**, v. 22, n. 3, p. 265-276, 2010.

GOUVEIA, L., CHOUBERT, G., GOMES, E., REMA, P., EMPIS, J., 1998. Use of *Chlorella vulgaris* as a carotenoid source of salmonids: Effect of dietary lipid content on colouring, digestibility and muscular retention. **Aquacult. Int.**, 6: 269 – 279.

GOUVEIA, L., CHOUBERT, G., GOMES, E., PEREIRA, N., SANTINHA, J., EMPIS, J., 2002. Colouring of gilthead seabream, *Sparus aurata* (Lin 1875), using *Chlorella vulgaris* microalga. **Aquacult. Res.**, 33: 1 – 7.

GOUVEIA, L., REMA, P., PEREIRA, O., EMPIS, J., 2003. Colouring ornamental fish (*Cyprinus carpio* and *Carassius auratus*) with microalgal biomass. **Aquaculture nutrition**, 9: 123-129.

GRAEFF, A. Método para multiplicação da alga (*Chlorella minutíssima*) para alimentação inicial de um sistema de produção de peixes fitoplantofagos. **II Congresso Iberoamericano Virtual de Acuicultura**. Anais... CIVA 2003. Zaragoza: 2003. 127-131.

GRUSH, J.; NOAKES, D. L. G.; MOCCIA, R. D. The efficacy of clove oil as an anesthetic for the zebrafish, *Danio rerio* (Hamilton). **Zebrafish**, v. 1, n. 1, p. 46-53, 2004.

GÜROY, D. et al. Effect of dietary Ulva and Spirulina on weight loss and body composition of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), during a starvation period. **Journal of animal physiology and animal nutrition**, v. 95, n. 3, p. 320-327, 2011.

HANEL, R; BROEKMAN, D. ; GRAAF, S.; SCHNACK, D. Partial Replacement of Fishmeal by Lyophilized powder of the Microalgae *Spirulina platensis* in Pacific White Shrimp Diets. **The open Marine Biology Journal**, v.1, n. 1-5, p. 1874 – 4508, 2007.

HOEK, Christiaan et al. **Algae: an introduction to phycology**. Cambridge university press, 1995.

JONES, R. "Let Sleeping Zebrafish Lie: A New Model for Sleep Studies". **PLoS Biology**, 2007; v 5, p 281.

KIM, Kang-Woong et al. Effects of dietary *Chlorella ellipsoidea* supplementation on growth, blood characteristics, and whole-body composition in juvenile Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 33, n. 4, p. 425-431, 2002.

KIMMEL, C.B., BALLARD, W.W., KIMMEL, S.R., ULLMANN, B. & SCHILLING, T.F. (1995) **Stages of Embryonic-Development of the Zebrafish**. *Developmental Dynamics*, 203, 253-310.

KUBITZA, F. **Qualidade da água: no cultivo de peixes e camarões**. 1. ed. Jundiaí: Fernando Kubitza. p. 208, 2003. (revisado em 2013).

LAWRENCE, C. The husbandry of zebrafish (*Danio rerio*): A review. *Aquaculture*, v.269, p. 1-20, 2007.

LIMA, A. O. Aquicultura ornamental: O potencial de mercado para algumas espécies ornamentais: Formas alternativas de diversificação da produção da aquicultura brasileira. **Panorama da Aquicultura**, Rio de Janeiro, v. 13, p. 23-29, 2003.

LIMA, A. O.; BERNARDINO, G.; PROENÇA, C. E. M. Agronegócio de peixes ornamentais no Brasil e no mundo. **Panorama da Aquicultura**, Rio de Janeiro, v. 11, n. 65, p. 14-24, 2001.

LIVENGOOD, E. J.; CHAPMAN, F. A. The ornamental fish trade: an introduction with perspectives for responsible aquarium fish ownership. University of Florida, **IFAS**

extension, FA 124. 2007. Disponível em: <<http://edis.ifas.ufl.edu/FA124>.> Acesso em: Junho de 2018.

MILLS, Dick; VEVERS, Gwynne; CAMPBELL, Douglas G. **The Tetra encyclopedia of freshwater tropical aquarium fishes**. New Jersey: Tetra Press, 1997.

MORAIS, Flávia Almeida Berchielli. **Alimento inerte e vivo no desempenho do mato grosso (*Hyphessobrycon eques*)**. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Centro de Aquicultura. São Paulo, 2013.

MOREIRA, R. L. *et al.* Utilização de *Spirulina platensis* como suplemento alimentar durante a reversão sexual de tilápia do nilo. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 23, n. 2, p. 134-141, 2010.

NAKAGAWA, H. Effect of dietary algae on improvement of lipid metabolism in fish. **Biomedicine & pharmacotherapy**, v. 51, n. 8, p. 345-348, 1997.

NORAMBUENA, Fernando *et al.* Algae in fish feed: performances and fatty acid metabolism in juvenile Atlantic salmon. **PloS one**, v. 10, n. 4, p. e0124042, 2015.

NOTTINGHAM, M. C.; RAMOS, H. A. C. **Exploração de peixes ornamentais no Brasil com ênfase sobre a introdução de espécies exóticas**. 2006.

NOTTINGHAM, M.C.; BARROS, G.M.L.; ARAÚJO, M.E.; ROSA, I.M.L.; FERREIRA, B.P.; MELLO, Tâmara R.R. (2005). **O Ordenamento da Exploração de Peixes Ornamentais Marinhos No Brasil**. Boletim Técnico do CEPENE. v. 13, n. 1: 75-113

PAKRAVAN, S. *et al.* *Chlorella vulgaris* meal improved growth performance, digestive enzyme activities, fatty acid composition and tolerance of hypoxia and ammonia stress in juvenile Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture Nutrition**, v. 24, n. 1, p. 594-604, 2018.

PARICHY, David M. *et al.* Normal table of postembryonic zebrafish development: staging by externally visible anatomy of the living fish. **Developmental dynamics**, v. 238, n. 12, p. 2975-3015, 2009.

PORTZ, Leandro; FRANÇA, Welliton Gonçalves de. Alimentação é determinante na cadeia da piscicultura ornamental. **Visão Agrícola**. n. 11. 2012. Disponível em: <http://www.esalq.usp.br/visaoagricola/sites/default/files/va11-nutricao04.pdf>. Acesso: Maio de 2018.

QIAO, Hongjin; WANG, Guangce; ZHANG, Xiaojuan. Isolation and characterization of *Chlorella sorokiniana* gxnn01 (Chlorophyta) with the properties of heterotrophic and microaerobic growth 1. **Journal of phycology**, v. 45, n. 5, p. 1153-1162, 2009.

RADHAKRISHNAN, S. et al. Replacement of fishmeal with *Spirulina platensis*, *Chlorella vulgaris* and *Azolla pinnata* on non-enzymatic and enzymatic antioxidant activities of *Macrobrachium rosenbergii*. **The Journal of Basic & Applied Zoology**, v. 67, n. 2, p. 25-33, 2014.

RADHAKRISHNAN, S. et al. Effect of dietary replacement of fishmeal with *Chlorella vulgaris* on growth performance, energy utilization and digestive enzymes in *Macrobrachium rosenbergii* postlarvae. **International Journal of Fisheries and Aquaculture**, v. 7, n. 5, p. 62-70, 2015.

RAMOS, R. da S.; HOSHINO, MDFG; YOSHIOKA, ETO. Levedura e alga na alimentação de pirarucu: efeitos sobre as variáveis hematológicas. In: **Embrapa Amapá-Resumo em anais de congresso (ALICE)**. In: JORNADA CIENTÍFICA DA EMBRAPA AMAPÁ, 3., 2017, Macapá. Resumos... Macapá: Embrapa Amapá, 2017.

REED, B.; JENNINGS, M. Guidance on the Housing and Care of Zebrafish. **Research Animals Department**, Science Group, RSPCA, 2010.

RAVEN, PETER H.; EVERT, R. F.; EICHHORN, SUSAN E. Biologia vegetal. 8ª ed. 2014.

REZENDE, Fabrício Pereira. **Intensificação da coloração em peixes ornamentais com uso de rações enriquecidas com pigmentos naturais**. 2010. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Viçosa.

RIBEIRO, Felipe de Azevedo Silva; LIMA, Marco Tulio; FERNANDES, CJBK. Panorama do mercado de organismos aquáticos ornamentais. **Bol. Soc. Bras. Limn**, v. 38, p. 282-3, 2010.

RIBEIRO, Felipe de Azevedo Silva; RODRIGUES, Laurindo André; FERNANDES, J. B. K. Desempenho de juvenis de acará-bandeira (*Pterophyllum scalare*) com diferentes níveis de proteína bruta na dieta. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 33, n. 2, p. 195-203, 2007.

ROCHA, Rui J. et al. Does the presence of microalgae influence fish larvae prey capture?. **Aquaculture Research**, v. 39, n. 4, p. 362-369, 2008.

ROSSONI, F.; FERREIRA, E. & ZUANON, J.. **Fishery and local ecological knowledge of the discus (*Symphysodon aequifasciatus*, Pellegrin 1904:**

Cichlidae) fishermen in the Reserva de Desenvolvimento Sustentável Piagaçu-Purus, lower Purus River, Brazil. Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi. Ciências Humanas, v. 9, n. 1, pp. 109-128, 2014.

SHUBERT, Elliot. (2003). Nonmotile Coccoid and Colonial Green Algae. Freshwater Algae of North America. Ecology and Classification.

SILVA, Laura Arnt. **Maturação e fertilização in vitro de oócitos estágio III de zebrafish.** 2015. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Rio Grande do Sul, 2015.

SILVA, Vanessa Karla; FERREIRA, Milena Wolff; LOGATO, Priscila Vieira Rosa. Qualidade da água na Piscicultura. **Lavras, MG: Universidade Federal de lavras, 2007.**

SPENCE R.; GERLACH G.; LAWRENCE C.; SMITH C. The behaviour and ecology of the zebrafish, *Danio rerio*. **Biological Reviews.** v. 83, p. 13-34, 2008.

SPENCE, Rowena; SMITH, Carl. Male territoriality mediates density and sex ratio effects on oviposition in the zebrafish, *Danio rerio*. **Animal Behaviour,** v. 69, n. 6, p. 1317-1323, 2005.

SUN, X., et al., 2012. The effect of dietary pigments on the coloration of Japanese ornamental carp (koi, *Cyprinus carpio* L). **Aquaculture** 342-343 (1), 62-68. 2012.

TAKEUCHI, T; LU, J.; YOSHIZAKI, G.; SATOH, S. Effect on the growth and body composition of juvenile tilapia *Oreochromis niloticus* fed raw spirulina. **Fisheries Science,** v. 68, n.1, p. 34-40, 2002.

TLUSTY, Michael. The benefits and risks of aquacultural production for the aquarium trade. **Aquaculture,** v. 205, n. 3-4, p. 203-219, 2002.

TOMASELLI, L. The microalgal Cell. In: RICHMOND, A. **Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology.** Blackwell, Oxford, 2004, p.3-19.

VALENTE, L. M. P. et al. Evaluation of three seaweeds *Gracilaria bursa-pastoris*, *Ulva rigida* and *Gracilaria cornea* as dietary ingredients in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles. **Aquaculture,** v. 252, n. 1, p. 85-91, 2006.

VARANDAS, Roberta Conceição Ribeiro et al. **Formulação de ração para juvenis de *Litopenaeus vanammei* a partir de espécies regionais de microalgas.** 2016.

WANG, Youji et al. Effects of daphnia (*Moina micrura*) plus chlorella (*Chlorella pyrenoidosa*) or microparticle diets on growth and survival of larval loach (*Misgurnus anguillicaudatus*). **Aquaculture international**, v. 16, n. 4, p. 361-368, 2008.

WESTERFIELD, M. **The zebrafish book. 2000. A guide for the laboratory use of zebrafish** (*Danio rerio*). 4th ed., Univ. of Oregon Press, Eugene. Disponível em: http://zfin.org/zf_info/zfbook/zfbk.html. Acesso: Maio de 2018.

XU, Wei et al. Effect of dietary chlorella on the growth performance and physiological parameters of gibel carp, *Carassius auratus gibelio*. **Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v. 14, n. 1, 2014.

ZAŤKOVÁ, I. et al. Carotenoid-enriched microalgal biomass as feed supplement for freshwater ornamentals: albinic form of wels catfish (*Silurus glanis*). **Aquaculture nutrition**, v. 17, n. 3, p. 278-286, 2011.